



Ministero delle Attività Produttive
Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi
Ufficio G2

REC'D 07 OCT 2003
 WIPO PCT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: INV. IND.

N. RE2002A000067 DEL 06.09.2002



*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
 depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
 risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

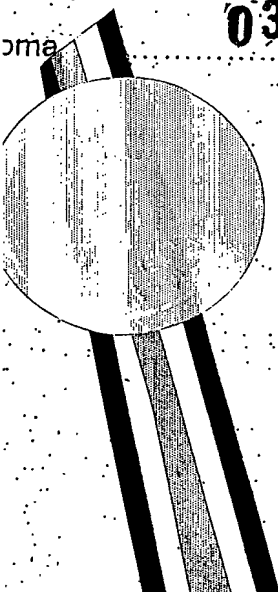
PRIORITY DOCUMENT
 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
 COMPLIANCE WITH
 RULE 17.1(a) OR (b)

03 SET. 2003

VIL DIRIGENTE

Polito Galloppo

dr. Polito GALLOPPO





N.G.

RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione Agristudio SRL SR
 Residenza 42100 Reggio Emilia codice 01774170359
 2) Denominazione _____
 Residenza _____ codice _____

RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome _____ cod. fiscale _____
 denominazione studio di appartenenza _____
 via _____ n. _____ città _____ cap _____ (prov) _____

DOMICILIO ELETTIVO destinatario Agristudio SRL
 via Gramsci n. 104/F città Reggio Emilia cap 42100 (prov) RE

TITOLO _____ classe proposta (sez/cl/sci) _____ gruppo/sottogruppo ☐ / ☐
integratori per la nutrizione animale e umana costituiti da chelati metallici con la metionina idrossi-analoghi
inclusi i chelati di ferro bi- e trivalente e i metodi per l'ottenimento degli stessi

ANTICIPATA ACCESSIBILITA' AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☐

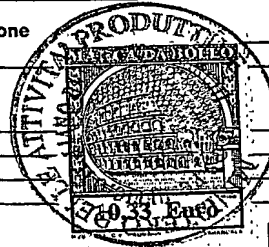
SE ISTANZA: DATA ☐ / ☐ / ☐ N. PROTOCOLLO ☐

INVENTORI DESIGNATI cognome nome _____
 1) Cinti Enrico 3) _____
 2) Predieri Sunny 4) _____

PRIORITA'	Nazione o organizzazione	Tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R	SCIOGLIMENTO RISERVE Data N° Protocollo
1)				<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u> </u> / <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>
2)				<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u> </u> / <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>

i. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI, denominazione _____

l. ANNOTAZIONI SPECIALI _____



DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.	PROV	n. pag	n. tav	Descrizione
Doc. 1)	<input checked="" type="checkbox"/>	<u>02</u>	<u>07</u>	riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)
Doc. 2)	<input type="checkbox"/>	<u>0</u>	<u>0</u>	disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)
Doc. 3)	<input type="checkbox"/>	<u>RIS</u>		lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale
Doc. 4)	<input type="checkbox"/>	<u>RIS</u>		designazione inventore
Doc. 5)	<input type="checkbox"/>	<u>RIS</u>		documenti di priorità con traduzione in italiano
Doc. 6)	<input type="checkbox"/>	<u>RIS</u>		autorizzazione o atto di cessione
Doc. 7)	<input type="checkbox"/>			nominativo completo del richiedente

8) attestati di versamento, totale Eur Centosessantadue//69

SCIOGLIMENTO RISERVE Data N°protocollo
<u> </u> / <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>
<u> </u> / <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>
<u> </u> / <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>
<u> </u> / <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>
Confronta singole priorità
<u> </u> / <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>

obbligatorio

COMPILATO IL 05 / 09 / 2002 FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I) _____

CONTINUA (SI/NO) ☒

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA (SI/NO) ☒

CAMERA DI COMMERCIO IND. ART. AGRICOLTURA DI
 VERBALE DI DEPOSITO NUMERO DI DOMANDA

REGGIO EMILIA

codice 35

Reg. A

RE 2002 A 0 0 0 6 7

L'anno DUEMILADUE, il giorno SEI

del mese di SETTEMBRE

Il (I) richiedente (I) sopraindicato (I) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. 4 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraindicato.

ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE _____



IL DEPOSITANTE

L'UFFICIALE ROGANTE

BEST AVAILABLE COPY

ASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA
NUMERO BREVETTO

RE 2002 A00 0067

REG. A

DATA DI DEPOSITO
DATA DI RILASCIO

6 SET 2002

RICHIEDENTE (I)

Denominazione Agristudio SRL

Residenza 42100 Reggio Emilia

TITOLO

integratori per la nutrizione animale e umana costituiti da chelati metallici con la metionina idrossi-analoga
clusi i chelati di ferro bi- e trivalente e i metodi per l'ottenimento degli stessi

Classe proposta (sez./cl./scl/)

☐

(gruppo sottogruppo)

☐ / ☐

RIASSUNTO

Il presente trovato riguarda l'estensione d'utilizzo in campo nutrizionale umano dei chelati di metalli bivalenti Mg, Ca, Mn, Co, Cu, Zn con la metionina idrossi-analoga, descritti in un precedente brevetto (brevetto italiano 01310947) e ivi proposti come integratori zootecnici, e la descrizione di nuovi chelati di ferro bi- e trivalente da utilizzare sia in campo agro-zootecnico in senso lato, sia in nutrizione umana nei casi di carenza di ferro di varia origine. Il presente trovato riguarda altresì il metodo di preparazione dettagliato del chelato solido puro di ferro bivalente



M. DISEGNO



DESCRIZIONE annessa a domanda di brevetto industriale avente per titolo "Integratori per la nutrizione animale e umana costituiti da chelati metallici con la metionina idrossi-analoga, inclusi i chelati di ferro bi- e trivalente e i metodi per l'ottenimento degli stessi" a nome di AGRISTUDIO s.r.l., via Gramsci 104/F, 42100 Reggio Emilia; inventori designati: Enrico Cinti, Sunny Predieri *dep. in data - 6 SET. 2002*

Il presente trovato riguarda l'estensione d'utilizzo in campo nutrizionale umano dei chelati di metalli bivalenti Mg, Ca, Mn, Co, Cu, Zn con la metionina idrossi-analoga, descritti in un precedente brevetto (brevetto italiano 01310947; international patent application PCT/IT99/00225), e ivi proposti come integratori zootecnici, e la descrizione di nuovi chelati di ferro con la metionina idrossi-analoga, sia in forma solida con il ferro bivalente, sia in forma liquida in soluzione acquosa con il ferro bi- e trivalente, da utilizzare sia in campo agro-zootecnico in senso lato, sia in nutrizione umana nei casi di carenza specifica di ferro di varia origine. Il presente trovato riguarda altresì il metodo di preparazione dettagliato del chelato solido puro di ferro bivalente.

Un chelato metallico è un composto che si forma da una molecola organica (come un aminoacido o una catena peptidica o un alfa-chetoacido o un alfa-idrossiacido) ed uno ione metallico mediante saldi legami di coordinazione. Tali composti vengono largamente impiegati sia nel campo agronomico sia in quello zootecnico, in quanto la loro utilità deriva dall'azione biologica svolta dall'elemento metallico coinvolto, come attivatore, in numerosissime reazioni enzimatiche, e come regolatore in diverse funzioni metaboliche in tutti gli organismi viventi. La presenza di una molecola chelante favorisce l'assorbimento, la disponibilità e l'utilizzazione dell'elemento metallico in quanto veicolato dalla componente organica in tutti i distretti dell'organismo.

Ciò si traduce anche in una notevole diminuzione delle perdite di metalli non utilizzati nelle deiezioni e quindi in un significativo risparmio economico e in un beneficio ecologico.



In ambito zootecnico, in particolare, tali composti vengono utilizzati in vari settori dell'allevamento per incrementare e potenziare, a livello di organi ed apparati, le normali attività metaboliche e funzionali, con notevoli riflessi positivi sulle capacità di sviluppo produttivo degli animali.

I chelati oggi presenti sul mercato internazionale, si possono classificare in varie categorie.

La più conosciuta è quella che raggruppa gli ioni metallici complessati con specifici singoli aminoacidi, altamente assimilabili e disponibili per l'organismo. Un'altra categoria riunisce metallo-ioni complessati con più aminoacidi condensati fra loro, preferibilmente tre, fino ad un peso molecolare di 800 Dalton. La maggior dimensione della molecola però comporta una maggiore difficoltà di assorbimento. Ad una ulteriore categoria appartengono i proteinati, ottenuti dall'unione di uno ione metallico con una catena polipeptidica. Tali composti, di cui talvolta non si conosce la precisa composizione aminoacidica, possono interagire con altre sostanze contenute nell'alimento e divenire quindi scarsamente disponibili per l'animale. Troviamo infine i metalli complessati con catene polisaccaridiche, in cui la componente organica incide scarsamente sulle reali esigenze nutrizionali dell'animale, ed i metalli sono uniti in modo labile e quindi la forma chelata è facilmente dissociabile in ambiente fisiologico.

I prodotti presenti sul mercato si differenziano fondamentalmente per il rapporto metallo/legante e questo per una precisa esigenza commerciale e per il tipo di legante che, come ricordato sopra, comprende proteine ad alto peso molecolare (soprattutto soia), proteine idrolizzate, specifici aminoacidi, zuccheri e polisaccaridi.

Dai dati della recente letteratura si possono dedurre le caratteristiche generali che dovrebbe possedere un chelato metallico ad elevata biodisponibilità; esse sono: (a) neutralità del complesso (la carica positiva del metallo è compensata da quella negativa dei leganti); (b) assenza di controioni negativi (cloruri, solfati); (c) basso peso molecolare del complesso

Cowin



($<10^3$); (d) rapporto metallo/chelante (bidentato) ben definito, possibilmente $\leq 1:2$. Inoltre i chelati dovranno essere il risultato di processi semplici, puliti e con rese elevate, senza sottoprodotti e a partire da materie prime facilmente reperibili. Queste caratteristiche possono essere realizzate disponendo di leganti adeguati che debbono essere facilmente deprotonabili e avere almeno due atomi donatori in posizione tale da realizzare la chelazione. Ottimi candidati sono gli amminoacidi e altri acidi organici adeguatamente funzionalizzati come gli alfa-idrossiacidi.

Per quanto riguarda il ferro, la sua somministrazione in forma chelata risulta essere particolarmente efficace contro l'anemia. L'anemia è uno stato patologico del sangue dovuto alla riduzione del numero di globuli rossi, alla diminuzione della quantità di emoglobina o da entrambe le carenze. Il ferro è di fondamentale importanza per l'emoglobina essendo il centro della fissazione dell'ossigeno nell'eme. Le categorie di individui che necessitano di una maggiore quantità di ferro sono le donne con ciclo mestruale o in gravidanza, i bambini sotto i due anni di età, i vegetariani, le persone con emorroidi, le persone soggette ad ulcere ed infine i donatori di sangue. I sintomi avvertiti da una persona anemica sono fatica, una maggiore sensibilità al freddo, irritabilità, perdita di concentrazione e palpitazioni cardiache.

Inoltre ferro può difendere dalle infezioni virali o batteriche perchè favorisce la stimolazione del sistema immunitario. In aggiunta il ferro favorisce il metabolismo delle vitamine del gruppo B. E' noto che la carenza di queste vitamine può provocare disturbi come dermatiti o anche disturbi più gravi come la pellagra (dovuta alla carenza della vitamina B3). Il ferro interviene nei processi di sintesi dell'adrenalina e della noradrenalina. Infine la mancanza del ferro porta ad una lenta cicatrizzazione delle ferite.

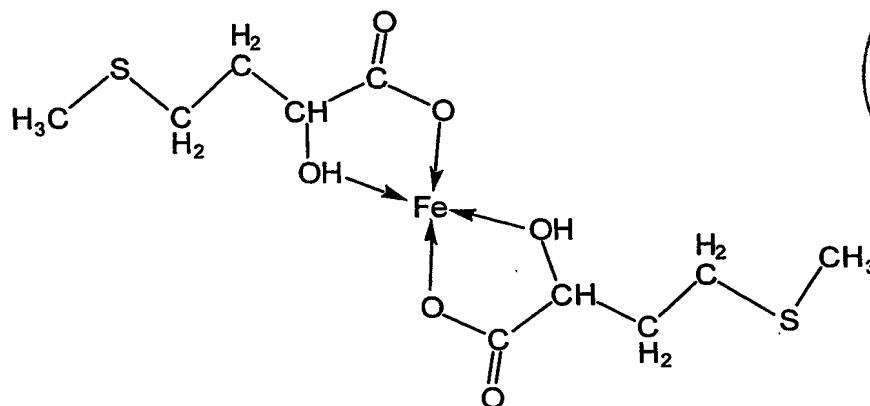
Scopo del presente trovato è proporre una serie di integratori già utilizzati in campo zootecnico per gli stati di carenza umana di oligoelementi metallici quali Mg, Ca, Mn, Co, Cu, Zn e ottenere un integratore ad uso agro-zootecnico e nutrizionale umano nel quale un



elemento metallico fondamentale per la vita, come il ferro, sia legato ad un composto organico bifunzionale con un saldo legame di coordinazione per formare un chelato stabile. Il metodo di sintesi dovrà essere semplice, riproducibile ed esente da sottoprodotti di reazione indesiderati.

Gli obiettivi sono stati raggiunti utilizzando come agente chelante bifunzionale l'acido 2-idrossi-4-metiltiobutanoico, un alfa-idrossiacido, noto soprattutto come "metionina idrossi-analoga" (MHA) e usato in nutrizione animale come fonte di metionina.

Questo acido organico forma facilmente un chelato con lo ione ferroso di stechiometria ben definita, contenente due molecole di chelante per atomo di ferro, allo stesso modo con cui forma chelati con i metalli bivalenti Mg, Ca, Mn, Co, Cu, Zn. Nello schema sottostante si riporta la formula di struttura del chelato ferroso dedotta dai dati spettroscopici riportati più avanti. La stessa struttura è stata proposta per gli altri metalli bivalenti.

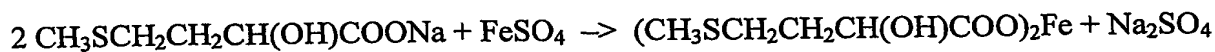


Nel caso dei metalli bivalenti diversi dal ferro, la preparazione è stata descritta nel brevetto precedentemente citato e consiste nella reazione diretta della MHA con i rispettivi carbonati dei metalli sopra menzionati.

Nel caso del ferro la preparazione avviene per reazione del sale sodico della MHA (o un sale con qualsiasi metallo alcalino o alcalino-terroso) con il solfato ferroso (o qualsiasi altro sale



ferroso) in ambiente acquoso. Il rapporto molare MHA/Fe deve essere 2:1 per la completezza della reazione. Il chelato ferroso precipita dall'ambiente di reazione e viene filtrato e lavato con acqua per eliminare il solfato di sodio solubile che si forma secondo lo schema di reazione:



Dopo filtrazione e lavaggio, il prodotto chelato viene poi essiccato e per ridurre la quantità di acqua adsorbita. Il prodotto si presenta come una polvere giallo-pallida scarsamente solubile in acqua. Lo spettro vibrazionale nell'infrarosso testimonia l'avvenuta chelazione: infatti lo spettro presenta una serie di bande caratteristiche in accordo con la struttura mostrata sopra. In particolare si osserva la banda dovuta allo stiramento asimmetrico del gruppo carbossilico a 1596 cm^{-1} , significativamente spostata a basse frequenze rispetto alla MHA libera (1720 cm^{-1}) come atteso per la deprotonazione e la coordinazione.

Si ottiene in tal modo un prodotto puro e stabile preparato con macchinari semplici e di costo contenuto.

Soluzioni stabili di chelati di ferro trivalente con MHA possono essere ottenute per semplice dissoluzione in ambiente acquoso di sali solubili di ferro trivalente e di MHA in rapporto $\text{MHA/Fe} \geq 3$ e mantenendo il pH ad un valore < 6 . Utilizzando rapporti molari MHA/Metallo > 3 possono essere ottenute anche soluzioni contenenti chelati di MHA con gli altri metalli.

Una sperimentazione in vitro, condotta esponendo cellule epiteliali di tipo CACO-2 (derivate dall'adenocarcinoma umano e frequentemente usate per studi di trasporto a livello della mucosa intestinale) ad una soluzione del chelato di ferro con la metionina idrossi-analoga, ha mostrato che il chelato di ferro non risulta tossico per le cellule intestinali. Inoltre i dati a disposizione indicano che il chelato di ferro viene efficacemente prelevato dalle suddette cellule dal comparto apicale del dispositivo sperimentale e trasportato nel comparto baso-laterale. Questo trasporto, che mima il passaggio in vivo dal lumen intestinale ai capillari



sanguigni e al tessuto connettivo, suggerisce che la specie chelata può risultare un efficace veicolo di assorbimento del ferro da parte dell'organismo.

Cai in Con...



RIVENDICAZIONI

1. Estensione all'uso nutrizionale umano dei chelati dei metalli bivalenti Mg, Ca, Mn, Co, Cu, Zn con l'acido 2-idrossi-4-metiltiobutanoico (noto anche come metionina idrossi-analoga, MHA), sia in forma solida, sia in soluzione; i prodotti solidi sono stati già descritti nel brevetto italiano 01310947 (international patent application PCT/IT99/00225) e ivi proposti come integratori zootecnici.
2. Integratore ad uso agro-zootecnico e nutrizionale umano costituito da un chelato puro allo stato solido, prodotto dalla reazione di MHA con un sale di ferro bivalente ed espresso dalla formula $(\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{COO})_2\text{Fe}\cdot n\text{H}_2\text{O}$ dove il numero n di molecole d'acqua può variare in dipendenza del trattamento di essiccazione.
3. Integratore per gli stessi usi della rivendicazione numero 2 costituito soluzioni di ioni ferrosi o ferrici in associazione con la metionina idrossi-analoga (MHA) in rapporto MHA/Fe variabile e, in particolare, maggiore o uguale a 2.
4. Metodo per la preparazione del prodotto solido descritto nella rivendicazione 2 caratterizzato dal fatto di impiegare come reagenti un sale della MHA con un metallo alcalino e un sale di ferro bivalente in ambiente acquoso.

Carini Condr